

Dr. Szüts Dávid

*„A mutagenesis mechanizmusai”*

című akadémiai doktori értekezésének bírálata

**A téma jelentősége:**

Szüts Dávid kutatásaiban a mutációk kialakulásának mechanizmusait és mozgatórugóinak genetikai és környezeti hatásait vizsgálja. A mutagenesis az életműködés velejárója, nélküle mi sem lennénk itt, ugyanis alapvető szerepe van az evolúcióban. A mutagenesis további pozitív hozadéka például az immunrendszer érése során az immunoglobulinok változékonyságáért felelős hipermutációk kialakulása. A mutagenesisnek azonban számos árnyoldala is van – motorja egyrészt a rák kialakulásának, másrészt nagyban hozzájárul az öregedéshez. Gyakorlati szempontból elmondható, hogy a mutagenesis molekuláris hátterének megismerése egyrészt felvilágosítást adhat számos rákterápiás eljárás veszélyéről, ugyanis bizonyos rákterápiák mutációkat okoznak és így maga a kezelés is indukálhat tumort, másrészt új diagnosztikai és terápiás eljárások fejlesztéséhez vezethet. A fentiek alapján vitathatatlan az értekezésben tárgyalt téma jelentősége, melyhez, elsősorban az újgenerációs genomszekvenálás módszertani megközelítésnek köszönhetően, Szüts Dávidnak sikerült egy új megvilágítást adni.

**A kísérleti megközelítés újdonságtartalma:**

Szüts Dávid kutatómunkájával alapvetően változtatta meg a mutagenesis vizsgálatának eddigi gyakorlatát, mivel a mutagenesis vizsgálatára korábban elsősorban mutagenesis riporterrendszereket alkalmaztak, melyek adott forrópont vagy adott gén mutációit vizsgálták, és nem tudták feltárni a teljes genomban történő változásokat. Meglehetősen nagy bátorság kellett a dolgozatban tárgyalt kutatás elindításához, ugyanis kérdéses volt, hogy genomként keletkezik-e elég mutáció ahhoz, hogy statisztikusan kiértékelhetőek legyenek az egy adott mutagén vagy génfunkció kiesése következtében kialakult DNS-változások. Másrészt, a projekt indulásakor nem lehetett biztosan tudni, hogy mennyire magas költsége lesz egy-egy kísérletsorozatnak; mennyire csökken az újgenerációs szekvenálás ára és mennyi minta szekvenálására lesz szükség. Végül a kísérletek indulásakor nem álltak még rendelkezésre megfelelő bioinformatikai eszközök, így bízni kellett ennek az akadálynak

a leküzdhetőségében is. Szüts Dávid vállalta mindezt a kockázatot, és jelen értekezése az ékes bizonyítéka annak, hogy erőfeszítéseit siker koronázta. Kimondható, hogy kutatási eredményeivel nagyban hozzájárult a mutagenézis és karcinogenezis folyamatainak genomikai megközelítéssel történő módszertanának kidolgozásához.

### **A dolgozat formai értékelése:**

Az értekezés a mellékletekkel együtt 116 oldal, ebből a szakmai érdemi rész 85 oldal. A disszertáció hagyományos felépítésű, 27 oldal bevezetés, 6 oldal módszerek, 48 oldal eredmények és megvitatásuk, 3 oldal következtetések és egy oldal új tudományos eredmények összefoglalása című fejezetet tartalmaz. A dolgozat 22 ábrát mutat be, melyek szemléletesek, olyannyira, hogy a témában valamennyire jártas olvasó számára az ábraalírások nélkül is értelmezhetőek. A disszertáció rendkívül igényes munka, nyelvhelyességével kapcsolatban nem találtam kifogást, és pontatlanságokban sem akad meg az olvasó szeme.

### **Kritikai megjegyzéseim az értekezéssel kapcsolatban:**

- 1, Az értekezés bevezetése a szakmabeliek számára is élvezetes összefoglaló és tartalmazza az eredmények megértéséhez szükséges alapismereteket. Hiányoltam viszont azon korábbi kísérleti rendszereknek a részletesebb, kritikus megközelítéssel történő bemutatását, melyek felváltását tűzte ki a jelölt egy fő célként. A mutagenézis tanulmányozására korábban is rendelkezésre álltak módszerek, humán rendszerben pl. a HPRT gén alapú riporterrendszer, míg élesztőben például az ún. canavanine riporterrendszer. Ezek részletesebb bemutatása, pozitívumai, negatívumai, alkalmazhatóságuk korlátai tovább tudták volna emelni a jelölt által kifejlesztett genomikai mutagenézismegközelítés értékét.
- 2, Az előbbi gondolatmenet folytatásaként, hiányoltam az eredmények megvitatása fejezetből a genomikai megközelítéssel nyert eredmények összevetését a korábbi kísérleti rendszerekkel nyert eredményekkel mind bizonyos génfunkciók, pl. HR géndeficienciák, mind a DNS-károsító illetve tumorterápiás szerek tekintetében.
3. A bemutatott eredmények legnagyobb része bioinformatikai elemzés végeredménye, ezért ezek elfogadásához szükséges belelátni pontosan hogyan történik az újgenerációs szekvenálási eredmények kiértékelése. A kifejlesztett, IsoMut módszer működésének részleteiről jó összefoglalást



tartalmaz a dolgozat, viszont ez a program csak a pontmutációk és indelek felderítésére szolgál. Hasznos lehetett volna a más típusú mutációk (pl. transzlokációk, nagyobb deléciók, duplikációk) elemzésére alkalmas bioinformatikai eszközök működésének kritikus szemszögből történő részletesebb ismertetése is.

### **Új tudományos eredmények:**

Az értekezésben részletezett kutatások új fő tudományos eredményeinek a következőket tartom:

- 1, Újgenerációs szekvenálási technikát dolgozott ki a mutagenézis vizsgálatára, mellyel elsőként térképezte fel több kísérleti sejtvonal genomját és több kemoterápiás szer mutagenikus hatását, mind kísérleti sejtvonalakban, mind kezelt betegek tumormintáiban.
- 2, Kifejlesztett egy bioinformatikai módszert, az IsoMut nevű eszközt, amely izogenikus genomokban hatékonyan képes a mutációk detektálására.
- 3, Jellemezte adott DNS-hibajavító folyamatok, mint a homológ rekombináció és a nem összeillő bázispárok javítása deficienciáinak mutagenikus következményeit, és kimutatta, hogy a homológ rekombináció deficiens sejteket szelektíven pusztító poli-ADP-polimeráz gátlószereknek nincs jelentős mutagenikus hatásuk.
- 4, DT-40 modell sejtvonalat alkalmazó kísérleti rendszerben feltárta adott DNS-hibatolerancia gének és mechanizmusok szerepét a sérült DNS replikációjában.

### **Kérdéseim:**

- 1, A jelölt kutatócsoportjában kifejlesztett ún. IsoMut bioinformatikai szoftver kényelmesen használható izogenikus minták pontmutációinak és rövid deléciók és inszerciók detektálására, viszont nem alkalmas nagyobb kromoszómális elváltozások, mikroszatellita instabilitás és kópiaszám-

változások követésére. A pontmutációkon felül ez utóbbik is jelentős szereppel bír a mutagenézis folyamatában és tanulmányozásukat elősegítené egy IsoMut-hoz hasonlóan könnyen kezelhető bioinformatikai eszköz. Lát-e arra igényt és lehetőséget, hogy egy ilyen, kifejezetten izogenikus genomok összehasonlító elemzésére alkalmas bioinformatikai eszköz is elkészüljön, mely esetleg az IsoMut-tal integrált formában tudna működni?

2, Korábban alkalmazott mutagenézis riporterrendszerek alkalmazásával feltárt adott génfunkciókhoz és DNS-károsító ágensekhez köthető mutációs mintázatok mekkora korrelációt mutatnak a dolgozatban alkalmazott genomikai megközelítéssel feltárt eredményekkel – mi az, amit el kell vetnünk és mi az, amit megtarthatunk a korábbi vizsgálatok eredményeiből? Legalább elővizsgálati szinten érdemes-e tovább alkalmazni a mutagenézis riporterrendszereket, vagy a genomikai megközelítések – különösen mivel a vizsgálat ára folyamatosan csökken – várhatóan teljesen kiszorítják majd a korábbi vizsgálati módszereket?

3, Meglepő az a következtetésük, hogy a PCNA poliubikvitilációja nem szükséges a hibatoleranciához. Mennyire mutat egyezést és mennyire különbözik ez a következtetés más kísérleti rendszerekben kapott eredményektől és a különbségeknek mi lehet az oka? Lehet-e ez a megfigyelés DT-40 sejtvonalra specifikus, és ha igen, akkor mennyire megfelelő ez a sejtvonal az adott hibatolerancia útvonal feltérképezésére?

4, HR gének hiányában fellépő mutagenikus folyamatok részletes feltérképezésre kerültek az értekezésben. Meglepő, hogy számos HR gén deficienciája jóval kisebb PARP inhibitor érzékenységet mutat, mint a BRCA1/2 gének deficienciája. Használható-e ez a megfigyelés a klinikai alkalmazhatóságán túl a hibajavító útvonalak térképezésére is? Például részt vehetnek-e a BRCA1/2 gének több útvonalban is, illetve adott vizsgált HR gének funkcióját más gének tudják-e helyettesíteni stb.?

5, Kérem a jelöltet, összegezze véleményét, hogy az értekezésében bemutatott genomikai megközelítések milyen eséllyel kerülhetnek be a közeljövőben a rutin tumordiagnosztikába, és mire



**Szegedi Biológiai Kutatóközpont**  
**Az Európai Unió Kiválósági Központja**  
**GENETIKAI INTÉZET**

6726 Szeged, Temesvári krt. 62.  
6701 Szeged, Pf. 521.  
Tel.: **62 599 657**  
Fax: **62 433 503**  
Email: [genetika.titkarsag@brc.hu](mailto:genetika.titkarsag@brc.hu)

lehetne azokat biztosan felhasználni, illetve mennyiben vezethet hibás döntésekhez a rendelkezésre álló bioinformatikai eszköztár nem elég körültekintő használata.

**Összegzés:**

Szüts Dávid egy jelentős, eredeti megközelítéseken alapuló és rangos nemzetközi folyóiratokban közölt hiteles eredményeken nyugvó, nagy műgonddal elkészített akadémiai doktori értekezést nyújtott be. Különösen jelentősnek gondolom, hogy kutatómunkája alapot teremtett a mutagenézisvizsgálatok genomikai megközelítéseinek elterjedéséhez, és a tumordiagnosztika irányába is új utakat jelölt ki. Mindezek alapján javaslom a nyilvános vita kitűzését és Szüts Dávid MTA doktori értekezésének elfogadását.

Szeged, 2021. március 12.

Dr. Haracska Lajos  
az MTA doktora